

DOI:10.12113/j.issn.1672-5565.201904003

文蛤过氧化氢酶的生物信息学分析

张志东^{1,2*}, 张雨^{1*}, 陈爱华^{1**}, 吴杨平^{1**}, 曹奕¹, 陈素华¹, 田镇^{1,2}, 李秋洁^{1,2}

(1. 江苏省海洋水产研究所, 江苏南通 226007; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 基于NCBI数据库, 对文蛤过氧化氢酶基因(*MmeCAT*)进行生物信息学分析, 旨在为文蛤过氧化氢酶的结构与功能的研究提供理论基础。结果表明, 该基因编码511个氨基酸。文蛤过氧化氢酶分子量为58 181.29 Da, 分子式为 $C_{2588}H_{3928}O_{767}N_{730}S_{20}$, 理论等电点为8.05, 属亲水蛋白。带负电荷氨基酸残基数(*Asp+Glu*)为63个, 带正电荷氨基酸残基数(*Arg+Lys*)为65个。假设所有半胱氨酸全部形成胱氨酸, 其消光系数为63 175 mol/L, 相应的吸光度为1.086; 假设所有的半胱氨酸均未形成胱氨酸时, 消光系数为62 800 mol/L, 相应的吸光度为1.079; 其半衰期为30 h, 脂肪族氨基酸指数为57.28, 不稳定系数为27.77 (<40), 可知文蛤过氧化氢酶为稳定蛋白质。亚细胞定位于过氧化物酶体, 存在71个磷酸化位点和51个糖基化位点, 无信号肽。二级结构以无规卷曲和 α -螺旋为主, 在物种进化上具有高度的保守性保守结构域预测表明, 该基因编码蛋白可能属于典型单功能过氧化氢酶的第三分支。研究文蛤过氧化氢酶结构, 能够为文蛤抗逆性品种选育提供理论基础。

关键词: 文蛤; 过氧化氢酶; 生物信息学分析

中图分类号: Q544⁺.6 文献标志码: A 文章编号: 1672-5565(2019)04-249-07

Bioinformatics analysis of catalase in saltwater clam *M. meretrix*

ZHANG Zhidong^{1,2*}, ZHANG Yu^{1*}, CHEN Aihua^{1**}, WU Yangping^{1**}, CAO Yi¹, CHEN Suhua¹, TIAN Zhen^{1,2}, LI Qiuji^{1,2}

(1. Jiangsu Institute of Marine Fisheries, Nantong 226007, Jiangsu, China;

2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Based on NCBI database, bioinformatics analysis of catalase genes (*MmeCAT*) in saltwater clam *M. meretrix* was conducted to provide theoretical basis for the research on the structure and function of catalase genes. Results showed that the gene encoded 511 amino acids. Molecular weight of the catalase was 58 181.29 Da, molecular formula was $C_{2588}H_{3928}O_{767}N_{730}S_{20}$, and theoretical isoelectric point was 8.05, belonging to hydrophilic protein. Total number of negatively charged residues (*Asp + Glu*) was 63 and that of positively charged residues (*Arg + Lys*) was 65. Assuming all pairs of Cys residues formed cystines, the extinction coefficient was 63 175 mol/L and the corresponding absorbance was 1.086. When assuming all Cys residues were reduced, the extinction coefficient was 62 800 mol/L and the corresponding absorbance was 1.079. Its estimated half-life was 30 hours and aliphatic index was 57.28. The instability index was computed to be 27.77, which classified the protein as stable. The subcells were located in the peroxisome, with 71 phosphorylation sites and 51 glycosylation sites but without signal peptides. The secondary structures are random coil and alpha helix, being highly conservative in species evolution. The prediction of the conserved domain indicated that this gene coding protein probably belonged to clade 3 branch of monofunctional catalase. The study on the structure of the *MmeCAT* can provide theoretical basis for the breeding of stress-resistant varieties of *M. meretrix*.

Keywords: *M. meretrix*; Catalase; Bioinformatics analysis

收稿日期: 2019-04-14; 修回日期: 2019-07-05.

基金项目: 江苏省渔业科技类重大项目 (No. D2018-1); 江苏省科技厅苏北专项 (No. SZ-YC2018064); 江苏省水产三新工程保种项目 (No. BZ2018); 南通市科技局基础科学研究项目 (No. JC2018026).

* 作者简介: 张志东, 男, 硕士研究生, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术. E-mail: 973082059@qq.com;

张雨, 男, 工程师, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术. E-mail: zhangyutan610@163.com.

** 通信作者: 陈爱华, 女, 研究员, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术. E-mail: chenah540540@aliyun.com;

吴杨平, 男, 副研究员, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术. E-mail: uyping@163.com.

文蛤 (*Meretrix meretrix*) 隶属于软体动物门 (Mollusca)、瓣鳃纲 (Lamellibranchia)、帘蛤目 (Veneroida)、帘蛤科 (Veneridae)、文蛤属 (*Meretrix*), 是我国重要的经济贝类之一^[1]。近年来, 随着海水养殖业的发展, 文蛤养殖面临着污染、疾病等问题的困扰, 因此选育抗逆性强的文蛤良种是目前行之有效的有效手段之一。过氧化氢酶 (CAT) 在文蛤抗逆性方面具有重要的指示作用。机体在逆境中, 会大量产生过氧化氢 (H_2O_2), 其具有强烈的氧化作用, 对细胞产生毒害^[2]。过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 是一类广泛存在于生物体内的活性酶, 可与生物体内的过氧化氢特异性结合, 使之分解为水和氧气, 维持机体氧化还原平衡, 使机体免受氧化应激 (Oxidative Stress, OS) 的损伤^[3]。十九世纪初, Thenard 首次发现过氧化氢酶。到了 20 世纪, Oscar Loew 将该酶正式命名为“Catalase”, 即过氧化氢酶, 又称触酶^[4]。以前主要研究过氧化氢酶活性及作为生物抗逆性的标志物^[5-7]。近年来, 许多水生生物过氧化氢酶基因陆续被克隆出来^[8-11], Wang 等^[12] (2012) 首次克隆出文蛤过氧化氢酶基因 (*MmeCAT*), 进一步推动了过氧化氢酶在分子生物学领域的研究。目前关于文蛤过氧化氢酶蛋白结构的研究尚未有报道, 本研究在已公布的 *MmeCAT* 序列的基础上, 利用生物信息学方法对其表达产物理化性质、亲水性、跨膜结构域、磷酸化位点、糖基化位点、信号肽、亚细胞定位、功能结构域、二级结构以及三级结构等进行预测, 旨在为文蛤过氧化氢酶的结构与功能的研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 数据来源

文蛤 *MmeCAT* 基因来源于 GenBank, 其登录号为 JQ005875.1。对该基因完整编码蛋白质序列进行 BLAST 分析; 与其同源性较高的有织锦巴非蛤 (*Paphia textile*), 登录号为 KF673103.1; 河蚬 (*Corbicula fluminea*), 登录号为 KX211962.1; 硬壳蛤 (*Mercenaria* sp.), 登录号为 JN671460.1; 合浦珠母贝 (*Pinctada fucata*), 登录号为 HQ703465.1; 厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*), 其登录号为 KX957929.1 等。以上物种 CAT 基因均由 NCBI 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) GenBank 数据库下载。

1.2 实验方法

首先用 BioEdit7.0 软件将文蛤 CAT 基因完整编码蛋白序列翻译成氨基酸序列待用。然后将氨基酸序列输入 ExPASy ProtParam 在线工具 ([https://web.](https://web.expasy.org/protparam/)

[expasy.org/protparam/](https://web.expasy.org/protparam/)) 分析该蛋白质的理化性质。理化性质包括氨基酸组成、分子式、相对分子质量、理论等电点、消光系数、半衰期、不稳定系数、脂肪系数等, 并用 Excel2007 整理所得数据。通过 ProtScale 工具 (<https://web.expasy.org/protscale/>) 预测该蛋白质疏水性、亲水性。通过 TMHMM Server v 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 预测跨膜结构区域。通过 NetPhos 3.1 Server 在线工具 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 对该蛋白质的磷酸化位点进行预测。利用 NetOGlyc 4.0 Server 在线工具 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) 对该蛋白质进行糖基化位点预测。通过 SignalP 5.0 Server 软件判断该蛋白质信号肽存在与否。通过 PSORT II Prediction 在线软件 (<https://psort.hgc.jp/form2.html>) 对该蛋白质进行亚细胞定位。使用 BlastP 对该蛋白质保守结构域进行分析。使用 SOPMA 在线工具 (<https://npsa-prabi.ibcp.fr>) 分析该蛋白质二级结构, 并用 SWISS-MODEL 在线工具 (<https://www.swissmodel.expasy.org/>) 预测该蛋白质三级结构。运用 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), 设置为高置信度 0.7, 不限制数量, 构建与 CAT 相互作用的蛋白网络。

2 结果与分析

2.1 文蛤过氧化氢酶理化性质分析

通过 ExPASy ProtParam 在线工具 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 获得文蛤过氧化氢酶的理化性质。文蛤过氧化氢酶由 511 个氨基酸组成, 其中甘氨酸 (Gly) 有 42 个, 含量最多占 8.2%; 色氨酸 (Trp) 和半胱氨酸 (Cys) 均有 6 个, 含量最少占 1.2% (见图 1)。相对分子质量为 58 181.29 Da; 理论等电点为 8.05; 带负电荷氨基酸残基数 (Asp+Glu) 为 63 个, 带正电荷氨基酸残基数 (Arg+Lys) 为 65 个; 其分子式为 $C_{2588}H_{3928}O_{767}N_{730}S_{20}$; 假设所有半胱氨酸全部形成胱氨酸, 其消光系数为 63 175 mol/L, 相应的吸光度为 1.086; 假设所有的半胱氨酸均未形成胱氨酸时, 消光系数为 62 800 mol/L, 相应的吸光度为 1.079; 其半衰期为 30 h, 脂肪族氨基酸指数为 57.28, 不稳定系数为 27.77 (<40), 可知文蛤过氧化氢酶为稳定蛋白质。

2.2 文蛤过氧化氢酶疏水性与亲水性分析

通过 ProtScale 工具得到文蛤过氧化氢酶疏水性与亲水性见图 2。图 2 中的负值表示亲水性, 该值越小说明该蛋白质亲水性越强; 正值为疏水性, 正值越大说明该蛋白质疏水性越强。文蛤过氧化氢酶

第 311 位的精氨酸 (Arg) 分值最高为 1.767 ;第 500 位的缬氨酸 (Val) 和 491 位的丙氨酸 (Ala) 分值最

低,为 -3.200 。亲水性总平均值为 -0.732,表明过氧化氢酶为亲水性蛋白。

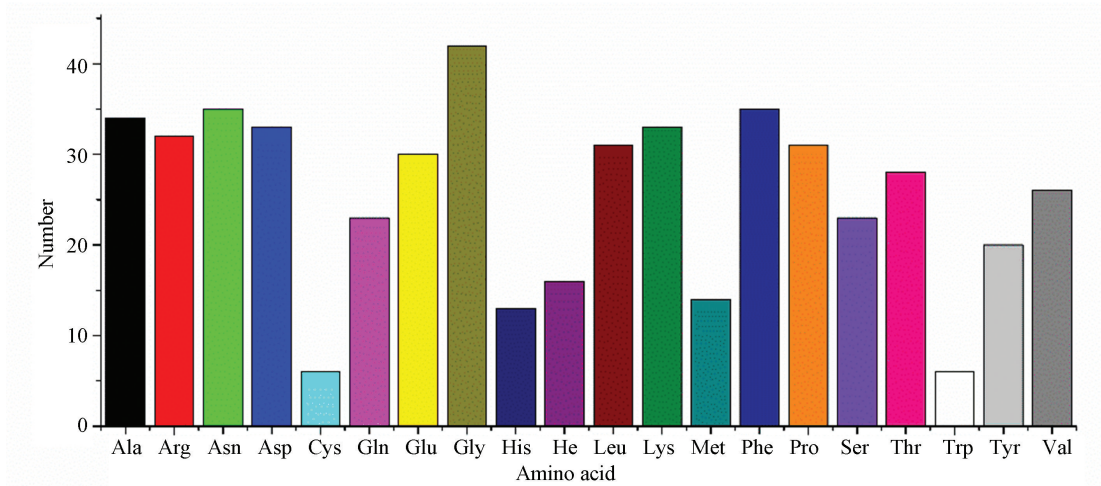


图 1 文蛤过氧化氢酶氨基酸组成

Fig.1 Amino acid composition of catalase in *M. meretrix*

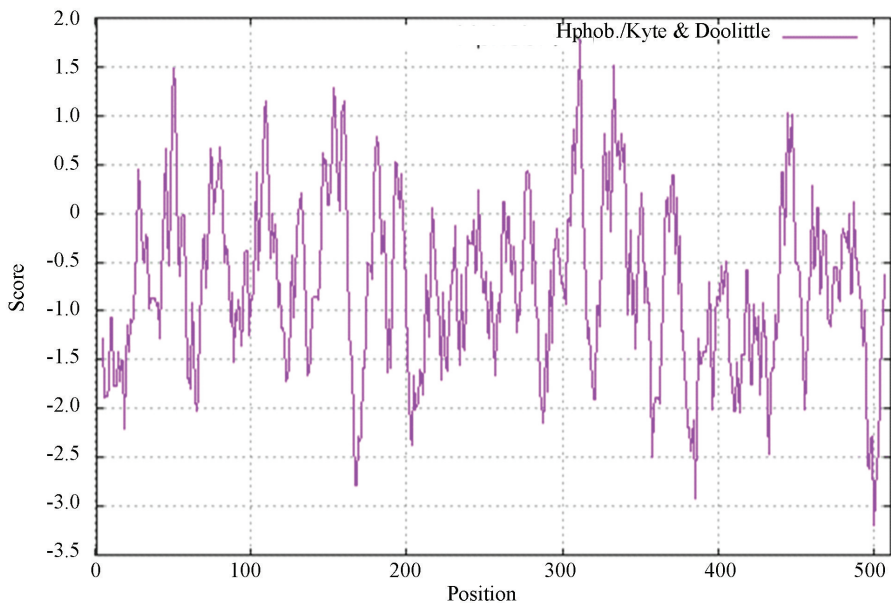


图 2 文蛤过氧化氢酶亲水性与疏水性

Fig.2 Hydrophilic and hydrophobic properties of catalase in *M. meretrix*

2.3 文蛤过氧化氢酶糖基化与磷酸化位点预测

通过 NetOGlyc 4.0 Server 与 NetPhos 3.1 Server 在线工具对该蛋白质进行糖基化和磷酸化位点预测。结果显示文蛤过氧化氢酶糖基化位点有 51 个,磷酸化位点有 71 个。其中位于丝氨酸 (Ser) 残基上的有 23 个,位于苏氨酸 (Thr) 残基上的有 28 个,位于酪氨酸 (Tyr) 残基上的有 20 个 (见图 3)。

2.4 文蛤过氧化氢酶跨膜区域与信号肽预测

运用 TMHMM Server v 2.0 软件预测文蛤过氧化氢酶跨膜区域,结果显示,该酶为膜外蛋白。通过

SignalP 5.0 Server 软件判断文蛤过氧化氢酶不存在信号肽。

2.5 文蛤过氧化氢酶亚细胞定位和保守结构域分析

通过 PSORT II Prediction 在线软件对文蛤过氧化氢酶进行亚细胞定位。结果表明:文蛤过氧化氢酶有 69.6% 可能存在于过氧化氢酶体中,有 21.7% 存在于细胞核中,存在于线粒体和细胞骨架的可能性均为 4.3%,说明文蛤过氧化氢酶极可能存在于过氧化氢酶体中。用 Blastp 在线工具比对文蛤过氧化氢

酶蛋白质序列,结果显示该蛋白质拥有血红素结合的保守结构域(Heme binding pocket)、NADPH 结合位点(NADPH binding site)以及四聚体界面

(Tetramer interface)三个结构功能域,属于典型单功能过氧化氢酶的第三分支(见图 4),可能属于 catalase like 超家族中 clade 3 分支的成员。

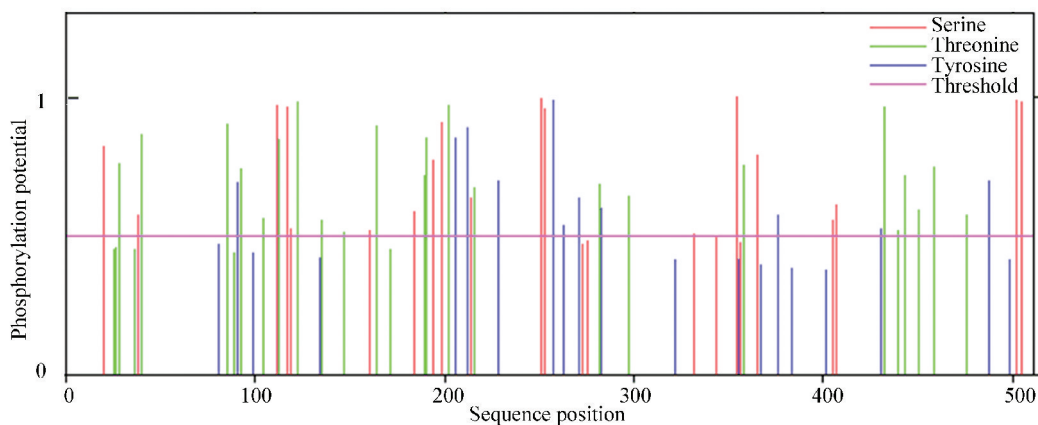


图 3 文蛤过氧化氢酶磷酸化位点预测

Fig.3 Prediction of catalase phosphorylation sites in *M. meretrix*

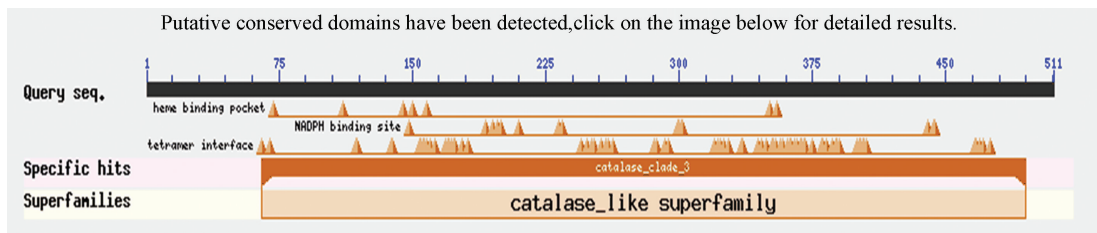


图 4 文蛤过氧化氢酶保守结构域分析

Fig.4 Conservative structure domain analysis of catalase in *M. meretrix*

2.6 文蛤过氧化氢酶二级结构和三级结构预测

使用 SOPMA 在线工具预测文蛤过氧化氢酶二级结构,结果表明无规卷曲(Random coil)和 α -螺旋(Alpha helix)是其主要构成元件。其中无规卷曲由 266 个氨基酸构成,占总氨基酸的 52.05%; α -螺旋由 145 个氨基酸构成,占总氨基酸的 28.38%;78 个氨基酸形成延伸链(Extended strand),占比为 15.25%; β -转角(Beta turn)由 22 个氨基酸构成,占比最小(4.31%)。通过 SWISS-MODEL 在线工具预测得出文蛤过氧化氢酶三级结构(见图 5),可见其扭曲和折叠较多,结构丰富,这对其生物学功能的发挥具有重要作用。

2.7 文蛤过氧化氢酶蛋白质相互作用分析

运用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),设置为高置信度 0.7,不限制数量,构建与 CAT 相互作用的蛋白网络(见图 6)。结果发现:与 CAT 相互作用的蛋白质主要包括 SOD1(Superoxide Dismutase 1)、SOD2(Superoxide Dismutase 2)、SOD3(Superoxide Dismutase 3)、GSR(Glutathione

Reductase)、AKT1(Protein Kinase B)、SCP2(Single Cell Protein 2)、HSD17B4(17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase IV)、ACOX1(Acyl Coenzyme A Oxidase 1)、HAO1(Hydroxyacid Oxidase 1)、DAO(Diamine Oxidase)。



图 5 文蛤过氧化氢酶三级结构

Fig.5 Three-dimensional model of catalase in *M. meretrix*

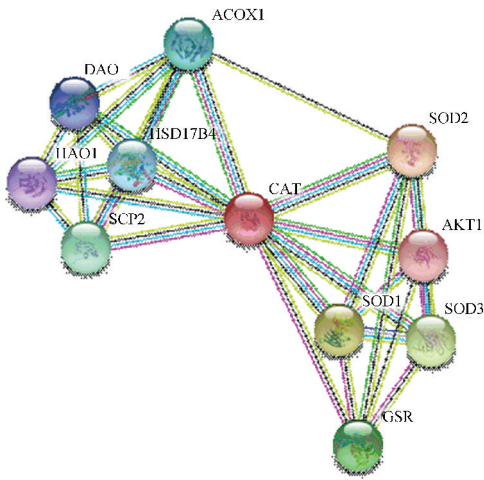


图 6 CAT 蛋白相互作用网络

Fig.6 Protein-protein interaction network for CAT

对以上互作蛋白的基因进行 GO 分析,结果表明:有 4 个互作基因表达产物具有超氧化物歧化酶活性,有 6 个基因参与表达氧化还原酶,有 3 个基因参与过氧化物代谢过程,3 个基因参与去除超氧自由基,3 个基因表达产物作为蛋白质复合体,还有 3 个基因表达产物可能是磷蛋白质,还有 3 个基因表达产物可能存在于细胞质中(见图 7)。KEGG 分析表明:互作基因在过氧化物酶体的形成过程显著富集,当文蛤受氧化应激时,ACOX、SCPX、CAT 等基因有上调趋势,PRDX1 基因则有下调趋势(见图 8)。

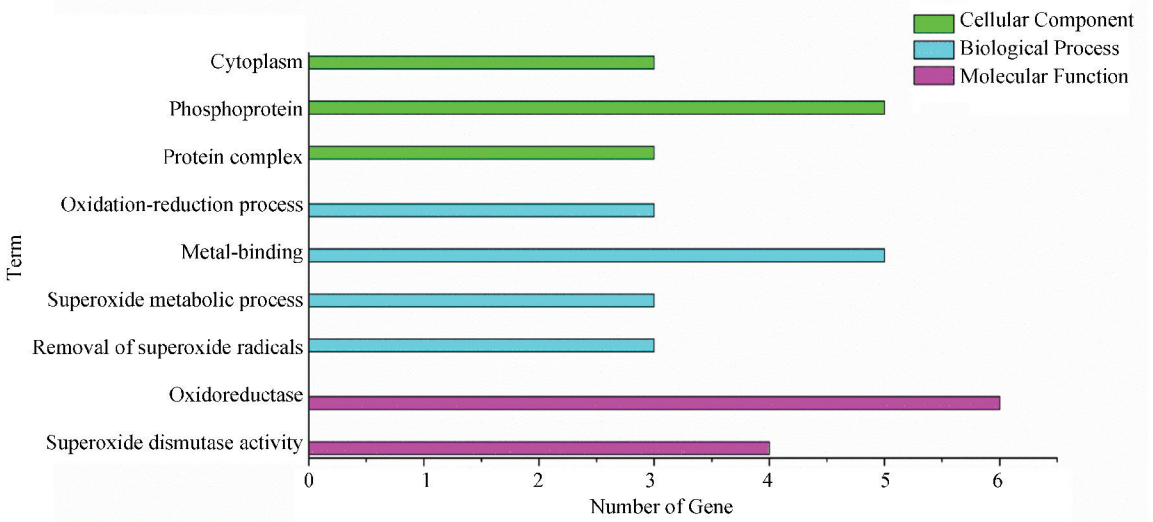


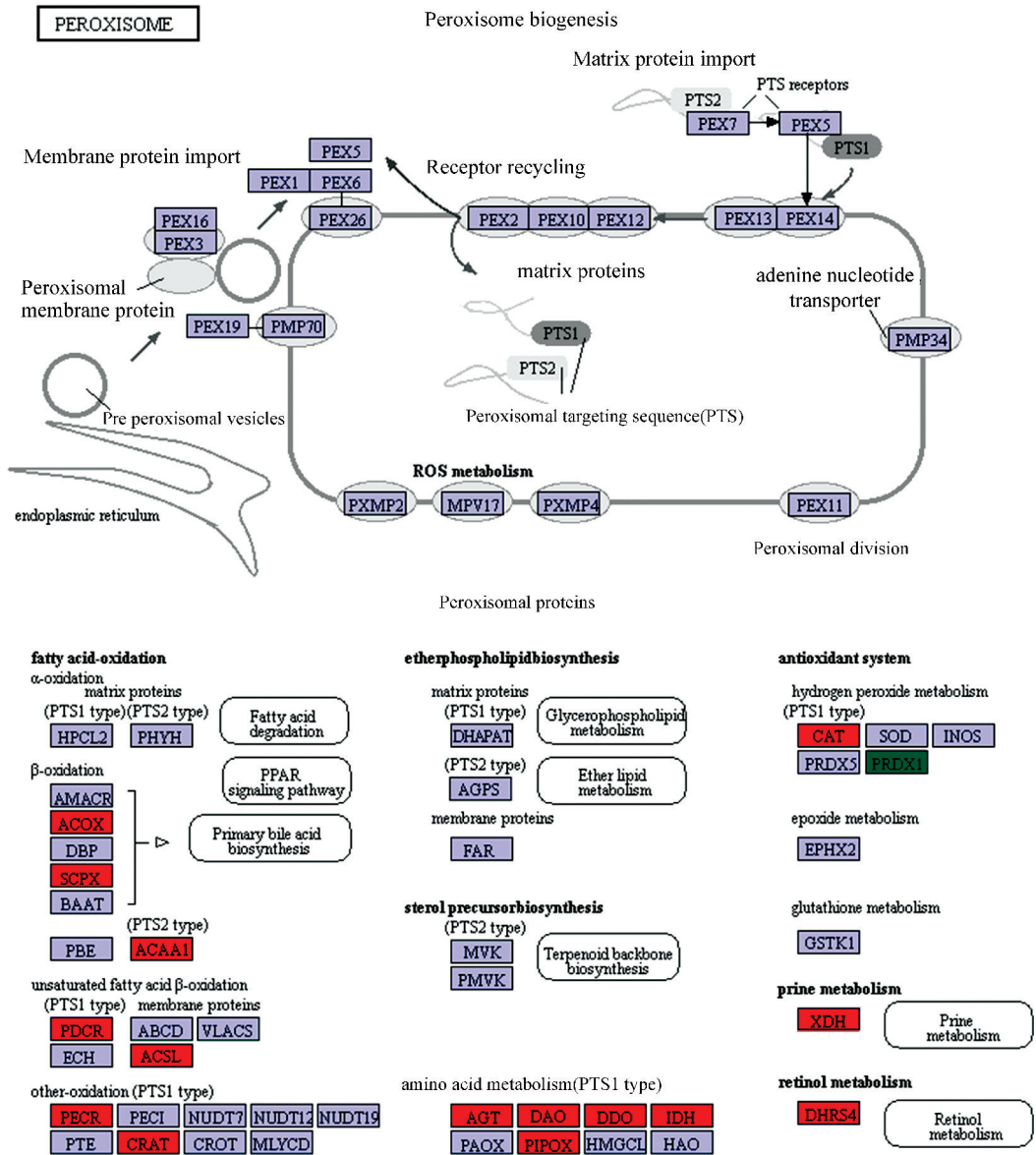
图 7 GO 注释结果

Fig.7 Results of GO annotation

3 讨论与结论

利用生物信息学的方法,对文蛤过氧化氢酶蛋白结构进行分析,结果显示文蛤过氧化氢酶由 511 个氨基酸组成,相对分子质量为 58 181.29 Da,为亲水蛋白,与栉孔扇贝 (*Chlamys Farreri*)^[13]、褶皱纹冠蚌 (*Cristaria plicata*)^[14]、盘鲍 (*Haliotis discus discus*)^[15]、仿刺参 (*Apostichopus japonicus*)^[16] 等过氧化氢酶的研究结果非常相似,这些酶的编码蛋白序列都在 500~520 个氨基酸之间,说明了该酶在物种进化上具有高度的保守性。文蛤过氧化氢酶的主要二级结构是无规卷曲,属于 catalase like 超家族。根据 GO 分析、KEGG 通路分析结果,结合亚细胞定位情况和结构分析结果,

推测文蛤过氧化氢酶在文蛤细胞内主要参与过氧化物酶体的合成及抗氧化作用。根据文蛤过氧化氢酶互作蛋白的基因 GO 分析和 KEGG 通路分析结果可知,互作基因表达产物具有超氧化物歧化酶活性、参与去除超氧自由基、参与过氧化物代谢过程等生物过程。当文蛤受氧化应激时,CAT 等基因显著上调(见图 8),与苏恩萍^[17]等文蛤过氧化氢酶活力研究结果一致,该结果说明文蛤过氧化氢酶的活力不仅受外界环境的影响,同时也受基因的调控。有研究表明 SOD 和 CAT 是机体防御过氧化损伤系统中的两个关键酶,其能有效地消除活性氧,防止细胞膜系统过氧化作用的发生^[3]。因此,CAT 基因与互作蛋白中的 SOD 基因之间的调控关系值得深入研究。



04146 5/14/14
(c) Kanehisa Laboratories

注：图中红色表示基因上调，绿色表示基因下调。

图 8 交互基因信号通路
Fig.8 Interacting gene signaling pathways

对文蛤过氧化氢酶理化性质、亲水性、磷酸化位点、糖基化位点、跨膜结构域、信号肽、亚细胞定位、二级结构、三级结构以及功能域等生物学信息进行了整理,为研究文蛤 MmeCAT 基因及其编码产物的功能提供了更多的信息。文蛤过氧化氢酶属稳定性蛋白,在生物进化上具有高度的保守性,其基因可以稳定遗传,且具有使机体免受氧化应激的生物学功能^[18]。因此,在今后文蛤抗逆性品种选育上,可将文蛤过氧化氢酶含量作为目标性状之一。研究文蛤过氧化氢酶结构,有助于进一步研究文蛤的生物应激作用,同时为文蛤抗逆性品种选育提供理论基础。

参考文献 (References)

[1] 张素萍,王鸿霞,徐凤山.中国近海文蛤属(双壳纲,帘蛤科)的系统分类学研究[J]. Zoological Systematics (动物分类学报(英文)), 2012, 37(3): 473-479. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0739.

ZHANG Suping, WANG Hongxia, XU Fengshan. Taxonomic study on meretrix (Bivalvia, Veneridae) from China seas[J]. Zoological Systematics, 2012, 37(3): 473-479. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0739.

[2] CABISCOL E, TAMARIT J, ROS J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species

- [J]. International Microbiology the Official Journal of the Spanish Society for Microbiology, 2000, 3(1): 3.
- [3] KIRKMAN H N, GAETANI G F. Mammalian catalase: A venerable enzyme with new mysteries[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2007, 32(1): 44-50. DOI: 10.1016/j.tibs.2006.11.003.
- [4] LOEW O. A new enzyme of general occurrence in organisms[J]. Science, 1900, 11(279): 701-702. DOI: 10.1126/science.11.279.701.
- [5] 贾秀英, 陈志伟. 镉对鲫鱼组织转氨酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. 环境污染与防治, 1997(6): 4-5. DOI: 10.15985/j.cnki.1001-3865.1997.06.002.
- JIA Xiuying, CHEN Zhiwei. Effects of cadmium on the activities of transaminase and catalase in tissue of *Carassius auratus*[J]. Environmental Pollution & Control, 1997, (6): 4-5. DOI: 10.15985/j.cnki.1001-3865.1997.06.002.
- [6] 成嘉, 符贵红, 刘芳, 等. 重金属铅对鲫鱼乳酸脱氢酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. 生命科学研究, 2006, 10(4): 372-376. DOI: 10.3969/j.issn.1007-7847.2006.04.019.
- CHENG Jia, FU Guihong, LIU Fang, et al. Effects of the heavy metal lead (Pb²⁺) on activity of LDH and CAT in the black carp, *Carassius auratus*[J]. Life Science Research, 2006, 10(4): 372-376. DOI: 10.3969/j.issn.1007-7847.2006.04.019.
- [7] 王群, 孟范平, 李永富, 等. 北部湾文蛤体内氧化逆境标志物对重金属积累的响应研究[J]. 中国科学: 化学, 2013, 43(09): 1189-1199. DOI: 10.1360/032012-500.
- WANG Qun, MENG Fanping, LI Yongfu, et al. Study on the responses of oxidative stress biomarkers to heavy metals accumulation in the clam *Meretrix meretrix* along the Beibu Bay[J]. Scientia Sinica Chimica, 2013, 43(09): 1189-1199. DOI: 10.1360/032012-500.
- [8] 郑清梅, 韩春艳, 温茹淑, 等. 草鱼过氧化氢酶全长 cDNA 的克隆、序列同源分析与组织表达[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(5): 529-538. DOI: 10.3969/gab.030.000529.
- ZHENG Qingmei, HAN Chunyan, WEN Rushu, et al. Full-length cDNA cloning, sequence homology analysis and tissue expression of a catalase gene from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(5): 529-538. DOI: 10.3969/gab.030.000529.
- [9] 严林飞, 安昕, 包苗苗, 等. 大黄鱼过氧化氢酶基因的克隆及其对鳃弧菌感染的响应[J]. 水产学报, 2017, 41(05): 4-11. DOI: 10.11964/jfc.20160110231.
- YAN Linfei, AN Xin, BAO Miaomiao, et al. Expression of catalase in *Larimichthys crocea* after infection of vibrio anguillarum [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(05): 4-11. DOI: 10.11964/jfc.20160110231.
- [10] CHEN P, LI I, LIU P, et al. cDNA cloning, characterization and expression analysis of catalase in swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(12): 9979-9987. DOI: 10.1007/s11033.012.1826.2.
- [11] SHIGEYOSHI D, INADA M, KONO T, et al. Molecular cloning, expression analysis and gene knockdown of catalase gene from kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(6): 1738. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.03.312.
- [12] WANG C, YUE X, LU X, et al. The role of catalase in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(1): 91-99. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.10.013.
- [13] LI C, NI D, SONG L, et al. Molecular cloning and characterization of a catalase gene from Zhikong scallop *Chlamys farreri* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 24(1): 26-34. DOI: 10.1016/j.fsi.2007.06.010.
- [14] YANG X L, LI G, WANG C G, et al. A catalase from the freshwater mussel *Cristaria plicata* with cloning, identification and protein characterization [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31(3): 389-399. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.06.003.
- [15] EKANAYAKE P M, ZOYSA M D, KANG H S, et al. Cloning, characterization and tissue expression of disk abalone (*Haliotis discus discus*) catalase [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 24(3): 267-278. DOI: 10.1016/j.fsi.2007.11.007.
- [16] 高杉, 周遵春, 董颖, 等. 仿刺参过氧化氢酶基因全长 cDNA 的克隆及表达分析 [J]. 中国农业科技导报, 2014, 16(2): 127-134. DOI: 10.3969/j.issn.1008.0864.
- GAO Shan, ZHOU Zunchun, DONG Ying, et al. Full-length cDNA cloning and expression analysis of catalase gene from sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. China Agricultural Science and Technology Guide, 2014, 16(2): 127-134. DOI: 10.3969/j.issn.1008.0864.
- [17] 苏恩萍, 孟范平, 孙婷, 等. 短期暴露于城市污水处理厂尾水的文蛤抗氧化酶响应 [J]. 中国环境科学, 2014, 34(2): 511-517. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6923.
- SU Enping, MENG Fanping, SUN Ting, et al. Responses of the antioxidant enzymes in *Meretrix meretrix* exposed to effluent from municipal sewage treatment plants for short-term [J]. China Environmental Science, 2014, 34(2): 511-517. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6923.
- [18] PUTNAM C D, ARVAI A S, BOUME Y, et al. Active and inhibited human catalase structures: Ligand and NADPH binding and catalytic mechanism [J]. Journal of Molecular Biology, 2000, 296(1): 295-309. DOI: 10.1006/jmbi.1999.3458.